Застосування ВЕРХ для кількісного визначення глібенкламіду в біологічних об'єктах

Кучер Т.В., Мерзлікін С.І., Коваленко К.В.
Кафедра токсикологічної хімії,
Національний фармацевтичний університет,
м. Харків, Україна
Smiletety@gmail.com

У даний час набуло поширення зловживання лікарськими засобами, що мають характер пожиттєвого застосування. При цьому зросла ймовірність випадкових та навмисних передозувань, що призводять до смертельних наслідків. До таких лікарських засобів відноситься похідне сульфонілсечовини – глібенкламід, що застосовується для лікування цукрового діабету 2 типу [4]. Відомі випадки летальних отруєнь глібенкламідом, переважно при суїцидальному передозуванні [3], які потребують судово-токсикологічних досліджень з ізолюванням токсиканту з біологічних об'єктів, виявленням та кількісним його визначенням. У зв'язку з особливостями токсикокінетики та біотрансформації глібенкламіду [1], застосовані аналітичні методи [2] мають бути специфічними для виявлення та кількісного визначення даного токсиканту. Застосування методики кількісного визначення токсичної речовини високочутливим та селективним методом дозволяє правильно інтерпретувати одержані аналітичні результати і встановити, чи мало місце в даному випадку отруєння. Тому, метою роботи є розробка методики кількісного визначення глібенкламіду селективним та високочутливим методом ВЕРХ у вилученнях з біологічних об'єктів для потреб судово-токсикологічних досліджень.

Для моделювання отруєння 50 г свинячої печінки протягом доби насичували розчином глібенкламіду в токсичних концентраціях. Ізолювання токсиканту з даного біологічного об'єкту проводили ацетонітрилом, підкисленим 6 М розчином кислоти хлоридної до pH 2,0-2,5 з подальшим фільтруванням, очищенням одержаного вилучення від органічних домішок 2,5% розчином натрію сульфату та *н*-гексаном та екстрагуванням хлороформом. Очищення даного екстракту від співекстрактивних речовин проводили методом ТШХ. Виявлення глібенкламіду в метанольному елюаті та його кількісне визначення проводили методом ВЕРХ з УФ-детектуванням на рідинному хроматографі «Міліхром-А-02» з УФ-детектуванням (ЗАТ «Еконова», Новосибірськ). Для розділення речовин використовували обернено-фазову колонку Prontosil-120-5-C18-AQ розміром Ø2×75 мм, зерніння 5 мкм («Bischoff Analysetechnik und Geräte GmbH», Німеччина). Градієнтне елюювання виконували шляхом змішування двох елюентів: елюент А – [0.2М $LiClO_4$ - 0.005М $HClO_4$], елюент Б - ацетонітрил кваліфікації «для ВЕРХ». Швидкість рухомої фази - 100 мкл/хв. Температура термостата колонки – 35 ^{0}С. УФ-спектрофотометричне детектування проводили одночасно при 8 довжинах хвиль: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 і 300 нм. Виявлення глібенкламіду здійснювали за часом утримування. Піки речовин метанольного розчину

стандартного зразка глібенкламіду та метанольного елюату, одержаного з тонкого шару були співвідносними за часом утримування (t_R = 9,99). Для кількісного визначення глібенкламіду будували градуювальний графік залежності площі піку метанольного розчину стандартного зразка глібенкламіду від концентрації (мкг/мл), визначеної за довжини хвилі 230 нм. Лінійність наведеного на рисунку градуювального графіка в координатах (S, ум. од) - (C, мкг/мл) спостерігалась в інтервалі 0,1-20,0 мкг/мл.

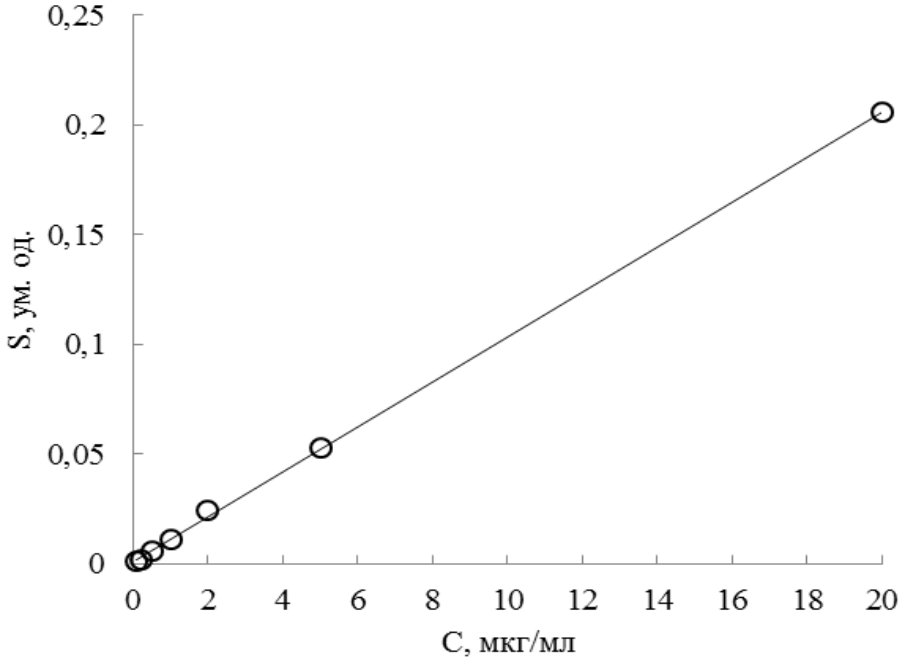

Рис. Графік градуювальної залежності площі піку метанольного розчину глібенкламіду від концентрації

Таким чином, вибрані умови для кількісного визначення глібенкламіду у вилученнях із біологічних об’єктів методом ВЕРХ. Одержані результати можуть бути використані при проведенні судово-токсикологічних досліджень біологічних об’єктів при отруєнні даним токсикантом.

Література

1. Enhancing dissolution, serum concentrations and hypoglycemic effect of glibenclamide using solvent deposition technique /S. Dastmalchi, A. Garjani, N.Maleki et al. // Pharm. Pharmaceut. Sci. – 2005. – Vol. 8(2). – P. 175-181.
2. Khalaf K. Spectrofluorimetric method for the determination of glibenclamide in pharmaceutical formulations / K. Khalaf, P. Hassen // J. Baghdad for Sci. – 2012. – Vol.9(2). – P. 692-697.
3. Usage the analytical screening of glibenclamide for chemical-toxicological analysis / T.V. Kucher, S.I. Merzlikin // Actual questions of development of new drugs. – Х.: НФаУ, 2014. – С.68.
4. Решедько Г.К. Клиническое применение глибенкламида: вопросы безопасности и эффективности / Г.К. Решедько, Е.В. Хайкина // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 3. – С.65-69.